

酸性磷酸酶（ACP）测定试剂盒说明书

（货号：A060-1-1 比色法 50管/48样）

免责声明：测试前请仔细阅读说明书，预试后再进行批量实验，否则由此导致的后果用户自行承担！

一、测定原理：

酸性磷酸酶分解磷酸苯二钠，产生游离酚和磷酸，酚在碱性溶液中与 4-氨基安替吡啉作用经铁氰化钾氧化生成红色醌衍生物，根据红色深浅可以测定其酶活力。

二、试剂组成与配制：（试剂盒有效期 6 个月）

	组份	包装规格	保存条件
试剂一	缓冲液	30mL×1 瓶	4℃
试剂二	基质液	30mL×1 瓶	-20℃以下
试剂三	碱液	60mL×1 瓶	4℃避光
试剂四	显色剂	40mL×2 瓶	4℃避光
试剂五	1.1mg/mL 酚标准贮备液	0.5mL×1 支	4℃避光

0.1mg/mL 酚标准应用液配制：1.1 mg/mL 酚标准贮备液：蒸馏水=1：10 稀释，现用现配。

三、所需仪器及试剂：

可见光分光光度计及 1cm 光径比色皿(或酶标仪 (520nm)及 96 孔板)，37℃水浴锅，涡旋混匀器，蒸馏水。

四、操作步骤：

1、样本前处理：

血清（浆）或其它液体样本可直接使用（或稀释一定的倍数后使用）；

组织样本：准确称取组织重量，按重量（g）：体积（mL）=1:9 的比例，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下机械匀浆，制成 10%组织匀浆，2500 转/分，离心 10 分钟，取上清液待测。（取部分上清液测蛋白浓度，蛋白定量试剂盒本公司有售，推荐用考马斯亮蓝法）

2、操作表：（正式实验前请挑选 2 例样本进行浓度梯度预试，预试结果以测定 OD 空白 OD 差值在 0.2 左右为宜）

	空白管	标准管	测定管
双蒸水（mL）	0.05		
0.1mg/mL 酚标准应用液（mL）		0.05	
样本液（mL）			0.05
试剂一（mL）	0.5	0.5	0.5
试剂二（mL）	0.5	0.5	0.5
充分混匀，37℃水浴 30 分钟			
试剂三（mL）	1.0	1.0	1.0
试剂四（mL）	1.5	1.5	1.5
立即混匀，室温静置 10min，波长 520nm，1cm 光径，空白管调零，分光光度计测各管吸光度值 A(或是每管吸取 200μL 反应液加到 96 孔板中，酶标仪 520nm 处读数)。			

五、单位定义与计算：

（一）、血清（浆）或其它液体样本中 ACP 的计算：

1、单位定义：每 100mL 血清每 30 分钟在 37℃催化基质分解产生 1mg 酚为 1 个活力单位（金氏单位）。

2、计算公式：

$$\text{ACP 活力 (金氏单位/100mL)} = \frac{A_{\text{测定}}}{A_{\text{标准}}} \times C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}} \times \frac{100\text{mL}}{V_{\text{样}}} \times N$$

（二）、组织中 ACP 的计算：

1、单位定义：每克组织蛋白每 30 分钟在 37℃催化基质分解产生 1mg 酚为 1 个活力单位（金氏单位）。

2、计算公式：

$$\text{组织中 ACP 活力 (金氏单位/gprot)} = \frac{A_{\text{测定}}}{A_{\text{标准}}} \times C_{\text{标准}} \times \frac{V_{\text{标准}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样}}} \times N$$

以上公式中：

C_{标准}：标准液浓度，0.1mg/mL；
C_{pr}：组织匀浆蛋白浓度，g/mL；
V_{标准}：加入的标准液体积，0.05mL；
V_样：样本取样量，0.05mL；
N：样本测试前稀释倍数。

附录：酸性磷酸酶标准曲线（选做）

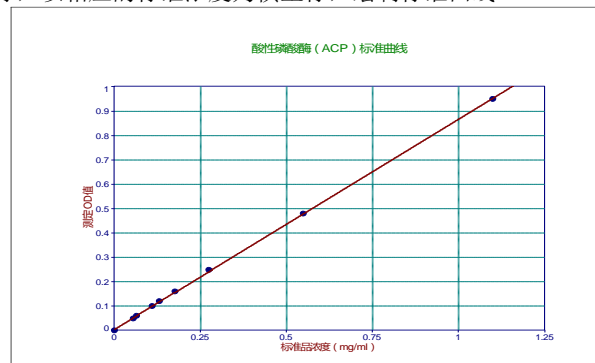
1、操作表：

管号	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1.1mg/mL 酚标准(μL)	0	2.5	3	5	6	8	12.5	25	50
双蒸水(μL)	50	47.5	47	45	44	42	37.5	25	0
缓冲液(mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
基质液(mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
充分混匀，37℃水浴 30 分钟									
碱液(mL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
显色剂(mL)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

立即混匀，室温静置 10 分钟，波长 520nm，1cm 光径，0 管调零，测各管 OD 值(或是每管吸取 200μL 反应液加到 96 孔板中，酶标仪 520nm 处读数)

2、测定结果：

以所测得的绝对吸光度（即减去空白管吸光度后）为纵坐标，以相应的标准浓度为横坐标，绘制标准曲线。



注：标准曲线可以不做，不影响测定及计算。若是有制作标准曲线，则可将样本测定管吸光值减去空白管吸光值后，代入标准曲线计算得到的值替换前面公式中的 $\frac{A_{\text{测定}}}{A_{\text{标准}}}$ ，继续运算

即可得最终结果。